УДК 619:616.71-091:616.391

Шапошников Н.Г., Дерезина Т.Н., Сулейманов С.М., Шапошникова Ю.В., Паршин П.А., Щербаков А.А.

(Всероссийский НИВИ патологии фармакологии и терапии РАСХН, Донской государственный аграрный университет, Воронежский государственный аграрный университет)

КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИМФОИДНЫХ ОРГАНОВ У ТЕЛЯТ ПРИ ИММУНОДЕФИЦИТЕ

Ключевые слова: телята, иммунодефицит, гипотрофия, гипоплазия, лимфатические узлы, селезенка, тимус, костный мозг

Введение

По данным Карпутя И.М. с соавт. (2006) и др. у телят часто встречаются возрастные и приобретенные иммунные дефициты, обусловленные недостаточным и несвоевременным поступлением колостральных и трансовариальных факторов защиты. В 2-3 недельном возрасте телят иммунодефициты связаны с расходованием пассивно перенесенных материнских факторов защиты, незрелостью иммунной системы, нарушением местной защиты пищеварительного тракта при резком переходе на новый корм и воздействием неблагоприятных факторов окружающей среды, метаболическими нарушениями, токсикозами и различными болезнями. При различных патогенных воздействиях окружающей среды у молодняка крупного рогатого скота развивается комплекс изменений, приводящих к развитию экологически обусловленного вторичного иммунодефицитного состояния организма животного (Дроздова Л.И. с соавт., 2007).

Однако до настоящего времени недостаточно изучено структурно-функциональное состояние органов иммунной системы у молодняка крупного рогатого скота при иммунодефиците.

В связи с этим возникла прямая необходимость изучения клинико-морфологической характеристики лимфоидных органов у телят при иммунодефиците.

Материал и методика исследований

Исследования проводились на комплексе по откорму крупного рогатого скота ОАО «Засосенская Нива» Красногвардейского района Белгородской области.

Для проведения исследований у 15 телят предварительными клиническими и лабораторными исследованиями были выявлены признаки иммунодефицита. Вторая группа состояла из 10 клинически здоровых телят и служила контролем. При оценке адаптивных возможностей и состояния здоровья молодняка крупного рогатого скота учитывали среднесуточный привес, морфологические и биохимические показатели крови.

В период опыта за телятами велось клиническое наблюдение. В 30-35 и 50-55 дневном возрасте от каждой группы по 3 теленка подвергали убою. При проведении клинических исследований брали кровь. В крови и ее сыворотке определяли содержание эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина, гематокрита, лейкограмму крови общепринятыми методами, общий белок рефрактометрически, белковые фракции по Оллу и Маккорду в модификации С.А. Карпюка (1976), циркулирующие иммунные комплексы (Д.В. Белокриницкий, 1987), уровень общих иммуноглобулинов с помощью наборов фирмы «Лахема».

Образцы лимфатических узлов (подчелюстные, брыжеечные), тимуса, селезенки и костного мозга фиксировались в 10-12% растворе нейтрального формалина и жидкости Карнуа, заливались по общепринятой методике в парафин. Срезы окрашивались гематоксилин-эозином и по Ван Гизон. На ДНК окрашивали для подсчета суммарной митотической активности лимфоидных клеток с реактивом Шиффа по методу Фельгена и окрашивали метиловым зелёным - пиронином по Унна - Паппенгейму.

Фиксацию материала для электронной микроскопии проводили в 2,5 % -ном глютаровом альдегиде на 0,114 М коллидиновом буфере на холоде с постфиксацией в 1 % -ном растворе тетраокси осмия на том же буфере. Осмомолярность 360 мосм достигали введением во второй фиксатор 0,05 М железосинеродистого калия и раствора Рингера. Материал заключали в эпон-812. Готовились полутонкие срезы, которые окрашивались азур-2 в сочетании

с фуксином основным и просматривались в световом микроскопе «Leica». Ультратонкие срезы готовили на ультрамикротоме Ultracut (Leica), контрастировали цитратом свинца и уранилацетатом и просматривали в электронном микроскопе ЕМ-208 (Philips).

При гистосрезах в каждой из зон тимуса, лимфоузлов и селезенки подсчитывали клетки лимфоидного ряда в 20-40 полях зрения. Для подсчета количества клеток на единицу площади и их процентного соотношения использовали окулярную измерительную сетку с известной площадью (0,0114 мм2) при увеличении объектива 90 под иммерсией. Количество морфометрических измерений, необходимых для объективного определения исходной величины было установлено по формуле: Х=400*(100-м)/М (Г. Г. Автандилов и др., 1981). Оптическая плотность гистохимических реакций на срезах измеряли на цитофотометре «Люмам И-3».

С помощью окуляра-микрометра в дольках тимуса измеряли ширину и учитывали соотношение коркового и мозгового слоев, а также количество эпителиальных телец (Гассаля). В лимфатических узлах и селезенке учитывали размеры лимфоидных фолликулов. Данные по морфометрии обрабатывали с помощью морфологической программы Meta Vision 1.2.

Результаты исследований

Телята с признаками иммунодефицита имели ниже среднюю упитанность, были слабыми, недостаточно развитыми и гипотрофичными. При этом у них наряду со снижением упитанности наблюдалось взъерошенность шерстного покрова, видимые слизистые оболочки глаз и ротовой полости, выглядели бледно-розовыми. Как правило, слабые телята отличались сонливостью или слабой реакцией на раздражители окружающей среды. При термометрии у некоторых телят наблюдалось незначительное снижение температуры тела, а в большинстве случаев температура тела у телят находилась в пределах нормы. Телята, отстающие в развитии, нередко неохотно принимали корм, иногда из-за отсутствия у них аппетита лежали в сторонке во время приема корма. У слабых телят нередко наблюдалось расстройство желудочно-кишечного тракта, которое проявлялось в виде поносов. Иногда поносы чередовались с запорами. Нарушение пищеварения проявлялось загрязнением шерстного покрова вокруг анального отверстия. Испражнения в начале были незловонными, но довольно жидкими. В последующие дни телята худели, становились вялыми, сонливыми, предпочитали лежать, неохотно пили воду и принимали молоко. Появлялись признаки обезвоживания организма телят в виде западания глаз в глазную орбиту, сухости носового зеркальца, увеличением вязкости крови и гемоглобина в ней. Увеличилось содержание гемоглобина в крови телят до 112 г/л при гематокрите 50,8%, отмечался слабовыраженный лейкоцитоз (8,27 тыс./мм3) с преобладанием сегментоядерных нейтрофилов, уменьшалось содержание общего белка до 52,8 г/л в сыворотке крови, хотя белковые фракции не выходили за пределы нормы.

У телят, у которых не наблюдалось расстройство желудочно-кишечного тракта, отмечали незначительное улучшение гематологических и биохимических показателей. При этом клиническое состояние было удовлетворительным, хотя наблюдалось отставание в росте. Эти клинические, гематологические и биохимические признаки были выявлены у телят, которые находились в состоянии иммунодефицита, что характерно для проявления первого возрастного иммунодефицита.

В последующие периоды развития у недоразвитых телят в возрасте 30-35 и 45-50 дней наблюдалось отставание в росте. Они заметно отставали от своих сверстников и, как правило, страдали легочной недостаточностью. При этом у них наблюдался кашель с носовым истечением слизистого характера, но не наблюдалось повышение температуры тела.

Иммунодефицит у телят сопровождался снижением содержания альбуминов в сыворотке крови и повышением содержания лейкоцитов до 11,6 тыс./мм3 в возрасте 30-35 дней. Наличие низкого содержания лимфоцитов в крови у телят в возрасте 30 дней, особенно в 45 дней указывало на снижение иммунологической защиты организма. Это подтверждалось весьма низким содержанием гамма-глобулинов (9,71%).

Структурная организация лимфоидных органов у телят при иммунодефиците

Лимфатические узлы.

Наблюдалась диффузная гипоплазия лимфоидной ткани на границе коркового и мозгового слоев. В корковом слое отмечалась однородность и гипоплазия лимфоидной ткани, которая преобладала как на границе слоев, так и в корковом слое. Плотность клеток в корковом слое составляла 18543 ± 361 n/мм^2, а в мозговом – 16993 ± 236,1 n/мм^2. В перифолликулярных зонах

лимфатического узла преобладали бластные формы лимфоцитов на фоне полиморфности лимфоидных клеток. Здесь же наблюдалось рыхлое содержание клеток ретикулоэндотелия на фоне гипоплазии лимфоидной ткани в мякотных шнурах.

В лимфатических узлах у телят при иммунодефиците фоликулы преимущественно представлялись из пролимфоцитов и лимфобластов, реактивные центры фолликулов едва были заметны, а местами отсутствовали. Мякотные шнуры выглядели в виде узких полосок, состоящих преимущественно из незрелых лимфоцитов. Краевые, промежуточные и мозговые синусы лимфатических узлов значительно были выражены и отечны, в которых рыхло содержались клетки ретикулоэндотелия, единичные лимфоциты и гранулоциты крови. В перифолликулярных зонах и мякотных шнурах отмечалось наличие единичных пиронинофильных клеток. Нередко можно было видеть диапедез форменных элементов крови в корковом и в мозговых слоях.

В ультраструктуре лимфоидных клеток ядра становились светлыми, полиморфными и вакуолизированными. Полиморфность лимфоидных клеток сопровождалась просветлением клеток ретикулоэндотелия и пролимфоцитов.

Селезенка. При иммунодефицитном состоянии у телят в селезенке наблюдалась выраженная гипоплазия лимфоидной ткани.

В первые дни жизни у новорожденных телят в селезенке был слабо выражен лимфопоэз. Имеющиеся единичные фолликулы были представлены из мелких скоплений лимфоидных клеток в периваскулярных зонах в виде муфт. Последние чаще были окружены зоной клеток ретикулоэндотелия. Гипоплазия селезенки незначительно больше была выражена у телят первых дней жизни. В красной пульпе отмечалось наличие единичных гранулоцитов, мегакариоцитов, пиронинофильных клеток и очаговое выпадение гемосидерина.

В месячном возрасте у телят в селезенке незначительно увеличилось количество полей с белой пульпой. Однако красная пульпа доминировала, и ее соотношение к белой пульпе составляло 10:1. Плотность клеток в белой пульпе составляла 11347 ± 901,8 n/мм^2.

В ультраструктуре клеток селезенки наблюдалось просветление ядер мегакариоцитов, а так же полиморфность ядер и различная электронная плотность клеток лимфоидного ряда и крови. При этом отмечалась низкая функциональная активность клеток лимфоидного ряда.

Тимус. При иммунодефиците у новорожденных телят структурная организация тимуса характеризовалась наличием слабовыраженной дольчатости. В большинстве случаев дольки имели продолговатую форму с гипоплазией лимфоидной ткани. Междольковая соединительнотканная прослойка была расширена и разволокнена. Гипоплазия лимфоидной ткани сопровождалась ее разреженностью. Здесь же наблюдалось формирование телец Гассаля, которые были единичными. Гипоплазия в тимусе носила диффузный характер. Плотность клеток в корковом слое равнялась к 17753 ± 751 n/мм^2, а в мозговом – 15358 ± 641 n/мм^2. Оксифильно окрашенное мозговое вещество железы содержало мало лимфоцитов. В средней части мозгового вещества долек нередко встречались небольшие слоистые эпителиальные тельца железы – тельца Гассаля. Здесь же наблюдались периваскулярные эпителиоидные формирования слоистых телец.

У месячных телят корковое вещество долей тимуса было инфильтрировано тимоцитами, которые равномерно заполняли просветы сетевидного эпителиального остова. Мозговое вещество железы содержало мало тимоцитов. В средней части мозгового вещества долек нередко встречались небольшие слоистые эпителиальные тельца железы (тельца Гассаля).

Тимоциты имели округло-овальные ядра со средней электронной плотностью. Наблюдалось просветление ядер лимфоидных клеток на фоне с гиперхромными тимоцитами. В цитоплазме клеток тимотического ряда наблюдалось очаговое скопление полиморфных плотных митохондрий.

Костный мозг. При иммунодефиците у новорожденных телят в ретикулярной сети красного костного мозга было слабо выражено миелоидное кроветворение. Очаги кроветворения были представлены преимущественно из эритробластов, эритроцитов и единичных мега- и поликариоцитов, заполняющих периферическую часть ретикулярной сети, а по направлению к центру органа занимаемая ими площадь резко уменьшалась за счет наличия здесь обильной жировой ткани. При этом очаги кроветворения выглядели в виде полосок и островков различных размеров. Здесь же заметно было угнетение гемопо-

эза с преобладанием клеток гранулопоэза. С возрастом у телят в костном мозге очаги кроветворения незначительно были богаты форменными элементами крови, мега- и поликариоцитами, хотя здесь тоже наблюдалось снижение гемопоэтической активности костного мозга.

У месячных телят в костном мозге отмечали угнетение миелопоэза. Ретикулярная строма, которая поддерживала архитектонику костного мозга, была развита хорошо, пронизана множеством кровеносных сосудов, в основном капиллярами синусоидного типа. Среди жировых клеток в промежутках между ретикулярными клетками находилось меньше гемопоэтических элементов. Наблюдалась соответствующая ультраструктура гемопоэтических клеток в костном мозге у телят при иммунодефиците.

Заключение. Результаты проведенных исследований позволяют заключить, что при иммунодефиците у телят изменения характеризовались наличием гипотрофии, гипотермии, анемии, снижением содержания общего белка, альбуминов и гамма глобулинов в крови, гипоплазии в структурной организации лимфатических узлов, селезенки, тимуса и костного мозга с соответствующей ультраструктурной организацией клеток их паренхимы.

Резюме: При комплексном обследовании телят с признаками гипотрофии обнаружили признаки иммунодефицита, которые характеризовались гипотермией, анемией, гипопротеинемией, снижением содержания альбуминов и гамма-глобулинов в крови. При морфологическом исследовании обнаружили гипоплазию лимфатических узлов, селезенки, костного мозга, тимуса с соответствующей структурной и ультраструктурной организацией клеток их паренхимы.

SUMMARY
In a complex examination of calves with signs of malnutrition found evidence of immunodeficiency, characterized by hypothermia, anemia, hypoproteinemia, decreased albumin and gamma-globulins in the blood. In the morphological examination revealed hypoplasia of the lymph nodes, spleen, bone marrow, thymus with appropriate structural and ultrastructural organization of cells of the parenchyma.

Keywords: calves, immune deficiency, malnutrition, hypoplasia, lymph nodes, spleen, thymus, bone marrow

Литература

1. Дроздова, Л.И. К вопросу о морфологии органов иммунной системы телят в экологически неблагополучных районах / Л.И. Дроздова, О.В. Бадова, Н.Г. Филипова // Современные проблемы патологической анатомии, патогенеза и диагностики болезней животных: Сб. науч. тр. – Ставрополь, 2007. – С. 153-155.

2. Карпуть, И.М. Клинико-морфологическое проявление иммунных дефицитов и их профилактика у молодняка / И.М. Карпуть, М.П. Бабина, Т. В. Бабина // Актуальные проблемы ветеринарной патологии и морфологии животных: Мат. междунар. науч.-произ. конф. 22-23 июня 2006 г. – Воронеж 2006. - С. 46-51.

Контактная информации об авторах для переписки

Иван Тихонович Шапошников, к.в.н., зам. директора по научно-производственным вопросам, e-mail: nivipat@mail.ru ГНУ «Всероссийский НИВИ патологии, фармакологии и терапии» РАСХН

Татьяна Николаевна Дерезина, д.в.н., профессор, заведующий кафедрой внутренних незаразных болезней животных, e-mail: derezinasovet@mail.ru, ФГОУ ВПО «Донской государственный аграрный университет»

Сулейман Мухитдинович Сулейманов, д.в.н., профессор, заведующий лабораторией патоморфологии, e-mail: suleimanov@list.ru, ГНУ «Всероссийский НИВИ патологии, фармакологии и терапии» РАСХН

Юлия Владимировна Шапошникова, к.в.н., ассистент кафедры эпизоотологии и микробиологии ФГОУ ВПО «Воронежский государственный аграрный университет»

Павел Андреевич Паршин, д.в.н., профессор, заведующий кафедрой ветеринарной патологии, e-mail: doktor.57@mail.ru, ГОУ ВПО «Российский университет дружбы народов»

Александр Александрович Щербаков, аспирант лаборатории патоморфологии ГНУ «Всероссийский НИВИ патологии, фармакологии и терапии» РАСХН